

Ricerca di base nello sviluppo di isatuximab e il suo impiego per il trattamento dei pazienti con mieloma multiplo recidivato/refrattario

FABIO MALAVASI^{1,2}, ANGELO CORSO FAINI^{1,2}, ROBERTO RIA³, ANTONIO G. SOLIMANDO³

¹Dipartimento di Scienze Mediche, Università di Torino; ²Fondazione Ricerca Molinette; ³Dipartimento di Scienze Biomediche e Oncologia Umana, Sezione di Medicina Interna "G. Baccelli", Università di Bari Aldo Moro.

Pervenuto il 24 dicembre 2021. Accettato il 7 gennaio 2022.

Riassunto. La molecola CD38 è diventata un bersaglio per la terapia mediata da anticorpi del mieloma multiplo (MM), fornendo risultati clinici favorevoli e una tossicità gestibile per il paziente. Attualmente in Italia sono disponibili due anticorpi anti-CD38. Questo lavoro ha lo scopo di esaminare le caratteristiche di isatuximab (Isa) sullo sfondo di precedenti ricerche riguardanti CD38. I risultati degli studi preclinici sono descritti e valutati in una prospettiva traslazionale. L'analisi di questi risultati è necessaria a causa delle funzioni complesse attribuite a CD38. I risultati ottenuti indicano che questa molecola è un bersaglio vantaggioso e che l'anticorpo agisce attraverso la cooperazione con cellule leucocitarie effettrici. Viene quindi valutata l'interazione con i recettori per la porzione Fc della IgG per aumentare l'emivita di Isa. CD38 è anche un ectoenzima, che metabolizza NAD⁺ extracellulare mediando la produzione di cADPR e ADPR. Isa è l'unico anticorpo in grado di inibire l'attività enzimatica di CD38, ma la valutazione del meccanismo d'azione dell'anticorpo lascia molteplici domande senza risposta. I risultati dell'esperienza *in vivo* con Isa possono far luce su alcuni di essi. Gli studi preclinici hanno dimostrato che l'efficacia di Isa è incrementata dall'associazione con gli immunomodulanti, in particolare con pomalidomide (IsaPd). Infatti, la combinazione a base di pomalidomide può superare la resistenza alla lenalidomide (Len). I risultati preclinici e clinici hanno supportato lo studio di Isa come monoterapia e in combinazione con IMiD negli studi clinici. In effetti, l'efficacia clinica fornita dall'associazione di IsaPd ha il potenziale per sfidare un'esigenza medica non soddisfatta rappresentata dalla precedente esposizione o refrattarietà alla Len. Al giorno d'oggi, se il paziente è abbastanza in salute, un approccio basato su triplette sembra più ragionevole di una doppietta. Tuttavia, all'interno del sottogruppo di pazienti esposti a Len, la mPFS è ancora insoddisfacente. Pertanto, dato che la Len in prima linea rappresenta un'opzione valida, la questione relativa all'impostazione della ricaduta dopo tale regime richiede ulteriori miglioramenti. ICARIA-MM è il primo studio randomizzato di fase 3 che aggiunge un anticorpo CD38 alla doppietta Pd. Sorprendentemente, le caratteristiche dei pazienti comprendevano soggetti con insufficienza renale, circa un terzo dei pazienti aveva ricevuto tre linee mediane di terapia e la maggior parte dei soggetti era refrattaria a Len. In tutti i sottogruppi, il beneficio dell'aggiunta di Isa era statisticamente e clinicamente significativo, indipendentemente dalla velocità di filtrazione glomerulare, dal rischio citogenetico, dalla refrattarietà del Len.

Parole chiave. Anticorpo terapeutico, CD38, IgG Fc recettori, immunomodulanti, isatuximab, mieloma multiplo.

Basic research in the development of isatuximab and its use for the treatment of patients with relapsed/refractory multiple myeloma.

Summary. The CD38 molecule has become a target for antibody-mediated therapy of Multiple Myeloma (MM), providing favorable clinical results and manageable patient toxicity. There are currently two anti-CD38 antibodies available in Italy. This note is aimed at examining the characteristics of isatuximab (Isa), against the backdrop of accumulated evidence concerning the CD38 target. The results of pre-clinical studies are described and assessed in a translational perspective. Comparative analysis of these results is necessary because of the variety of functions attributed to CD38. The results obtained indicate that the molecule is an appropriate target, and that the antibody acts through the cooperation with effector leukocyte cells. The interaction with receptors for the Fc portion of the therapeutic molecule is then evaluated for increasing the half-life of Isa. CD38 is also an ectoenzyme, which metabolizes extracellular NAD⁺ and production of cADPR and ADPR. Isa was the only antibody inhibiting CD38 enzymatic activities. Evaluation of the antibody's mechanism of action leaves multiple unanswered questions. It is to be expected that the results from *in vivo* experience with Isa may shed light on some of them. Preclinical studies have shown that Isa activity is significantly enhanced when combined with immunomodulators, particularly pomalidomide (IsaPd). Indeed, the pomalidomide based combination can overcome lenalidomide (Len) resistance. Preclinical and clinical results supported the investigation of Isa as a monotherapy and in combination with IMiDs in clinical studies. Indeed, the clinical efficacy provided by the association of IsaPd hold the potential to challenge an unmet medical need represented by the Len previous exposure or refractoriness. Nowadays, if the patient is fit enough, a triplet-based approach seems more reasonable than a doublet one. Nevertheless, within the subgroup of Len exposed patients the mPFS is still unsatisfactory. Thus, given that frontline Len would represent a growing option the question regarding the relapse setting after those regimen warrants further improvements. ICARIA-MM is the first randomized phase 3 trial adding a CD38 antibody to Pd backbone. Remarkably, the patients' characteristics comprised subjects with renal insufficiency, approximately one third of the patients had three median lines of therapy, and most subjects was Len refractory. Benefit of anti-CD38 Isa addition was statistically and clinically significant, irrespectively from glomerular filtration rate, cytogenetic risk, Len refractoriness.

Key words. CD38, IgG Fc receptors, immunomodulators, isatuximab, multiple myeloma, therapeutic antibody.

Ricerca di base e meccanismi di azione di anticorpi terapeutici

Negli anni '70 il "Workshop on the Differentiation Antigens" ha promosso un'importante iniziativa volta a definire una mappa delle molecole di superficie caratterizzanti le diverse popolazioni cellulari umane, sfruttando la punta più avanzata degli strumenti analitici di quel tempo, ossia l'impiego degli anticorpi monoclonali murini (mAb). Le plasmacellule fin dall'inizio si dimostrarono le più restie a fare emergere molecole strettamente specifiche: la prima a essere identificata fu la molecola Plasma Cell-1 (PC-1)¹.

Fu proprio in quegli anni che la molecola CD38 venne identificata².

CD38 è una molecola che non presenta varianti polimorfiche significative e svolge molteplici funzioni: è un ectoenzima che metabolizza NAD⁺, ma anche una molecola di adesione e un recettore coinvolto in pathway di segnalazione intracellulari. Inoltre, è espressa a livelli particolarmente alti dalle plasmacellule normali e neoplastiche. La assoluta maggioranza di pazienti con mieloma multiplo (MM) esprime CD38 dalle fasi iniziali della malattia, mantenendolo fino alla fine. Queste caratteristiche proposero CD38 all'attenzione di ricercatori e soprattutto delle compagnie farmaceutiche come potenziale bersaglio *in vivo* di terapie mediate da anticorpi.

Il primo mAb che ha raggiunto uno stadio avanzato di caratterizzazione è daratumumab (Janssen), un anticorpo totalmente umano che ha ottenuto risultati ottimi nei primi trial ed è stato quindi rapidamente approvato dalla Food & Drug Administration per impieghi *in vivo*. A questo è seguito lo sviluppo di altri anticorpi con la stessa specificità, come MOR202 (Morphosys), TAK-079 (Takeda) e Isa (Sanofi): al momento sono in fase di avanzato sviluppo numerosi altri mAb e approcci che usano CD38 come bersaglio^{3,4} (figura 1).

Isa, in particolare, è un anticorpo proveniente dall'umanizzazione del reagente murino HB7. Il clone SAR650984 è stato selezionato da Sanofi per la capacità di produrre un mAb in grado di riconoscere in modo specifico la molecola CD38 e soprattutto per il fatto di indurre forti segnali apoptotici sul tumore. Tale anticorpo si è dimostrato anche in grado di modulare significativamente l'attività enzimatica di CD38 (vedi oltre)⁵.

Si osservò che l'anticorpo era sottoposto a tensioni provenienti dal bersaglio, ma anche da cellule effettrici leucocitarie. Nel caso del MM si poteva dedurre che l'ambiente particolare in cui cresceva il tumore all'interno del midollo fosse in grado di modulare gli effetti terapeutici. Emerse già in quegli anni che la maggior parte delle funzioni mediate da un anticorpo (antibody-dependent cell cytotoxicity - ADCC)⁶, dalla sua interazione con il complemento (complement-dependent cytotoxicity - CDC) o con le cellule fagocitarie (antibody-dependent cell phagocytosis - ADCP) era affiancata da effetti derivanti dall'interazione con popolazioni leucocitarie effettrici ad azione positiva o negativa⁷.

Questo permise di ipotizzare che l'azione di un mAb non sia il risultato del semplice effetto di legame con la molecola bersaglio sul tumore, ma di rafforzare l'ipotesi che fattori multipli possano influenzare le interazioni anticorpo-bersaglio e che si verificano numerosi eventi, di concerto ma con attori diversi, che contribuiscono a determinare il risultato finale (figura 2)⁷.

Alcuni di questi componenti, frutto di studi specifici, sono qui sinteticamente raccolti.

- i) *Densità della molecola CD38 sulla superficie della cellula bersaglio.* Un aspetto non precedentemente considerato nella terapia anticorpale *in vivo* è l'espressione della molecola bersaglio e un suo legame quantitativo nell'attivazione di processi biologici. Il gruppo di Bruno Paiva (Università di Navarra, Spagna) ha usato un approccio estrema-

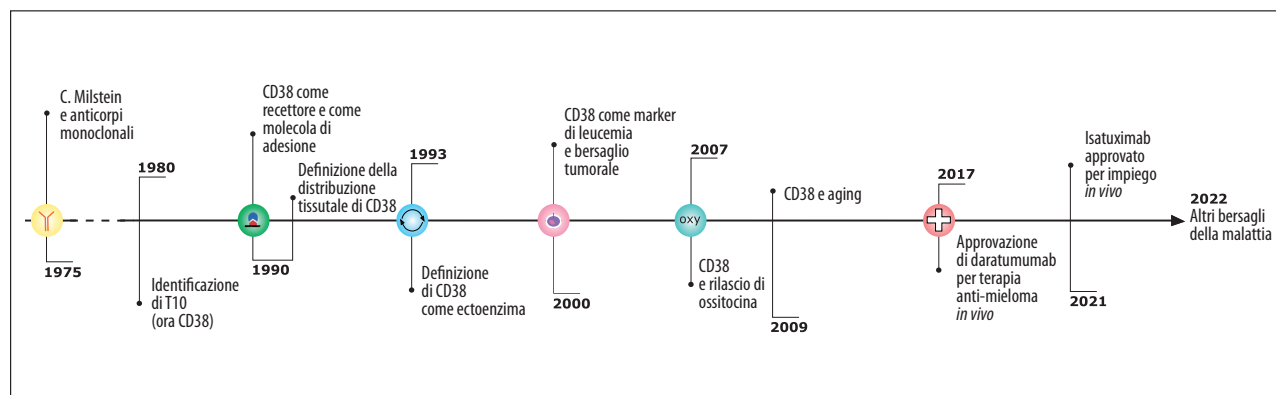


Figura 1. Tappe di sviluppo di CD38 umano: dalla sua identificazione nel 1980 allo sviluppo e approvazione in clinica di anticorpi monoclonali terapeutici, di cui è il bersaglio.

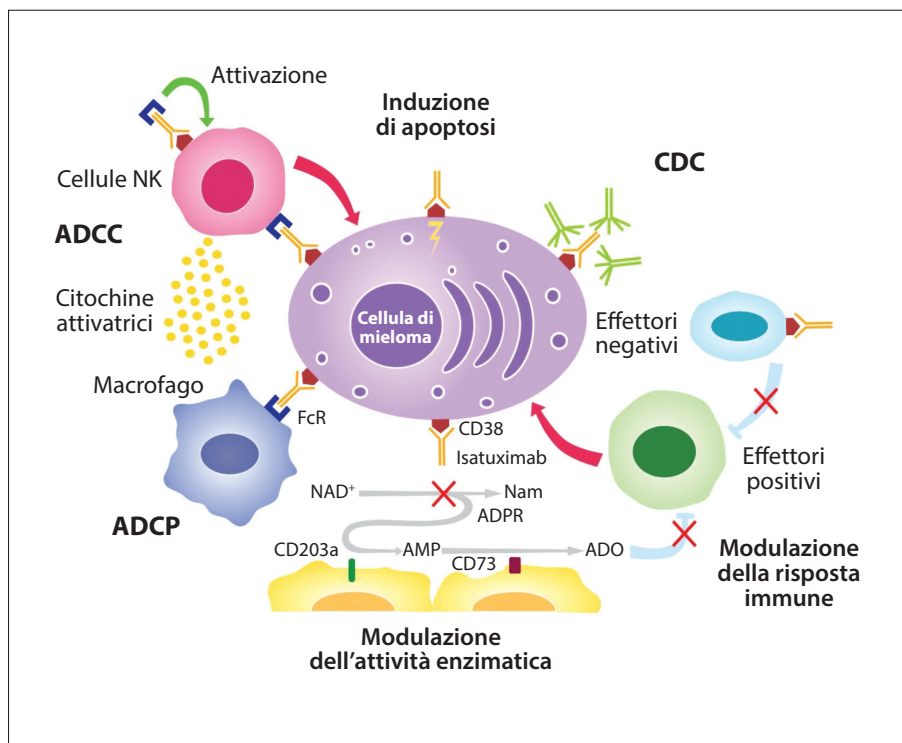


Figura 2. Principali meccanismi d'azione di isatuximab. L'anticorpo agisce sulla cellula tumorale attraverso molteplici meccanismi: citotossicità mediata da anticorpo (ADCC), da complemento (CDC), fagocitosi mediata da anticorpo (ADCP), apoptosi diretta, modulazione dell'attività enzimatica di CD38 ed effetti immunomodulatori.

mente originale, associando il numero di molecole espresse dalla superficie delle cellule bersaglio (normali e tumorali) alla capacità di innescare una specifica risposta mediata da anticorpo⁸. È emerso che esiste una soglia al di sotto della quale i meccanismi effettori di Isa non vengono attivati. Queste osservazioni hanno dimostrato che solamente le cellule di mieloma (e linee stabilizzate *in vitro*) esprimono CD38 a una densità superiore a quella della soglia: l'unica eccezione tra le popolazioni normali è costituita da cellule NK, oltre che da precursori midollari. Questa caratteristica funzionale sembra essere esclusiva di Isa, ma è bene sottolineare che il fattore soglia non limita la funzionalità dell'anticorpo, ma sembra piuttosto rappresentare una caratteristica protettiva dall'azione detrimente dell'anticorpo su cellule normali che, esprimendo bassi livelli di CD38, vengono in questa maniera risparmiati. Altra osservazione proveniente dal lavoro di Paiva su Isa riguarda l'azione dell'anticorpo sulle cellule NK, che risulta apparentemente diversa rispetto a quella esercitata sul mieloma. L'esperienza indica che la popolazione NK scompare rapidamente dalla circolazione durante il trattamento, impiegando mesi per ritornare allo stato iniziale. A differenza del bersaglio tumorale, l'azione dell'anticorpo sulle cellule NK induce dapprima un'attivazione, seguita da un esaurimento funzionale (*exhaustion*).

ii) *IgG FcR*. È emerso che una parte dell'azione terapeutica dell'anticorpo viene mediata da popo-

lazioni effettrici, tutte esprimenti FcR di diverso tipo sulla loro superficie⁷. Tali popolazioni effettrici esprimono infatti la molecola bersaglio CD38 e al tempo stesso diversi tipi di FcR. I segnali che si ottengono sono la somma di quelli derivati dal legame con CD38 e simultaneamente con gli FcR e possono dare risposte individuali che vanno da attivazione a inibizione. Questo è il cosiddetto "effetto scorpione" (figura 3)⁹.

iii) *IgG FcR neonatale (FcRn)*. Un altro membro della famiglia recettoriale è l'FcR neonatale, un misnumero derivante dal fatto che la molecola è stata inizialmente identificata nel latte materno. La molecola è un regolatore operante nei liquidi biologici in grado di captare albumina e IgG: lo stesso avviene per quelle terapeutiche. È stato infatti osservato che gli anticorpi terapeutici, una volta somministrati (nel sangue o sottocute), diffondono fino a raggiungere cellule endoteliali e monocitoidi, da cui vengono internalizzati. All'interno dell'ambiente lisosomiale e in presenza di opportuno pH (circa 5,5), le particelle esterne vengono lisate, mentre le IgG vengono catturate da FcRn, che le accompagnano nel riciclo e nella riesposizione verso l'ambiente esterno. Questo effetto è l'elemento chiave nel determinare la biodisponibilità e l'emivita *in vivo* delle IgG terapeutiche. Gli effetti mediati da FcRn non sono stati ancora studiati a fondo *in vivo*¹⁰. Recenti osservazioni indicano che gli effetti tempodipendenti dopo trattamento *in vivo* con Isa sono il risultato di fattori combinati dall'evoluzione della

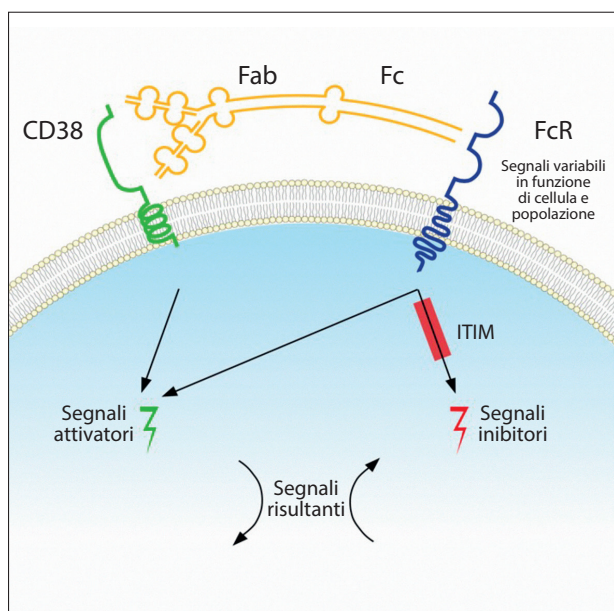


Figura 3. Anticorpo/antigene/FcR: un complesso trimolecolare su una singola cellula. Il contemporaneo legame di una singola molecola di anticorpo con il suo bersaglio e l'FcR sulla stessa cellula può indurre l'attivazione di molteplici vie segnalatorie, i cui effetti si sommano e interagiscono fra loro.

malattia e da variazioni del pathway di riciclo mediato da FcRn¹¹.

Martin et al.³ hanno confermato che uno dei meccanismi di azione di Isa è condizionato dal numero delle molecole bersaglio espresse dalle cellule coinvolte. Altre funzioni dell'anticorpo sono classicamente mediate da FcR, le più importanti per gli effetti sul mieloma¹².

- iv) *CD38 come ectoenzima*. Caratteristica unica di Isa è costituita dalla sua capacità di legare una regione di CD38 fondamentale per la sua attività enzimatica. È stato dapprima scoperto che CD38 è il più impor-

tante metabolizzatore di NAD⁺ extracellulare, una importante sorgente di energia e segnali. Da un'analisi cristallografica della sua struttura, è emerso che Isa è un inibitore allosterico in grado di interagire parzialmente con la sequenza coinvolta nella generazione di cADPR. Questo metabolita è uno dei messaggeri citoplasmatici coinvolti nella regolazione del Ca²⁺ cellulare^{5,13,14}. Questa osservazione ha portato a considerare la possibilità che l'attività enzimatica potesse costituire (o contribuire a) un nuovo meccanismo di azione dell'anticorpo.

Inizialmente è stata valutata *in vitro* la capacità di Isa, daratumumab, MOR202 e TAK-079 di modulare l'attività enzimatica di CD38. I risultati ottenuti indicano che Isa ha un potere inibitorio superiore¹⁵ (figura 4)³. Risultati più recenti sono stati condotti su linee umane CD38⁺ usando a confronto gli anticorpi approvati per impiego *in vivo*: il legame di Isa è apparso come un inibitore allosterico che riduce in modo significativo – ma non totale – la sintesi di cADPR. È tuttavia necessario aggiungere una nota di cautela sui risultati di queste osservazioni, ricordando la complessità dell'azione enzimatica di CD38, che prevede 5 prodotti identificati¹⁸.

Si è cercato di evidenziare una possibile azione dell'attività enzimatica *in vivo*. A tal fine l'attività enzimatica di CD38 è stata valutata all'interno della nicchia midollare, che il mieloma si costruisce modificando a proprio favore condizioni e cellule ivi presenti. Tale microambiente presenta caratteristiche ottimali per lo studio: è un sistema chiuso di cellule che circondano la lesione neoplastica e che sono messe in comunicazione mediante plasma. All'interno della nicchia, il plasma assicura lo scambio di substrati e di prodotti dei numerosi ectoenzimi operanti nell'area (figura 5).

Tale plasma viene raccolto in clinica per motivi diagnostici: analizzandone alcuni µl, è stato nota-

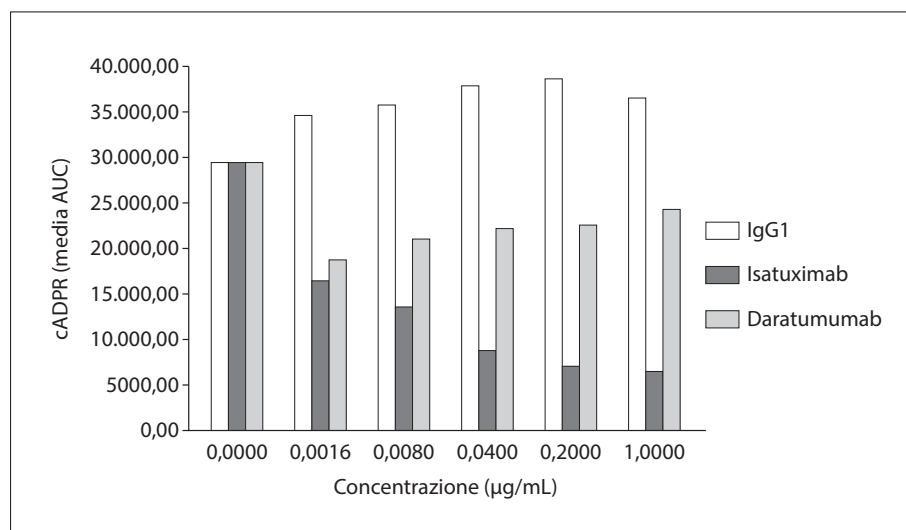


Figura 4. Inibizione da parte di isatuximab del potenziale enzimatico di CD38.

Modificata da: Martin et al.³.

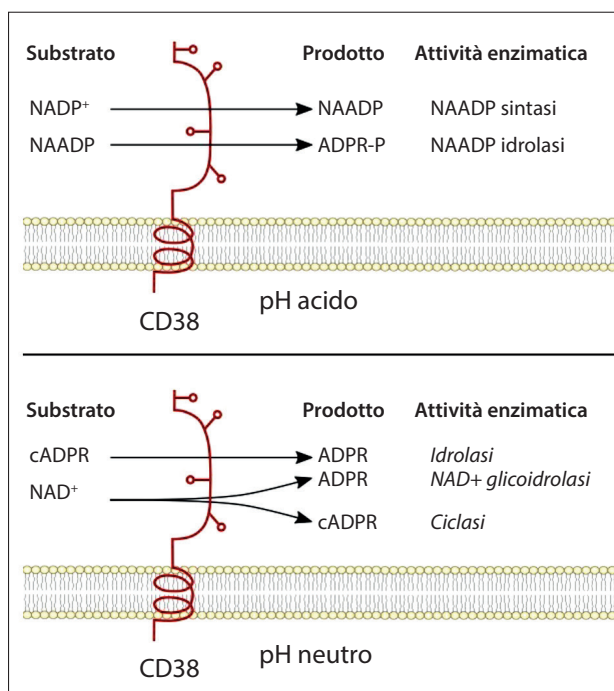


Figura 5. Attività enzimatiche di CD38. A pH acido prevale l'attività di NAADP sintasi e idrolasi, a pH neutro prevale l'attività ciclasica, di NAD⁺ glicoidrolasi e cADPR idrolasi.
Modificata da: Horenstein et al.¹⁸

to che esistevano al suo interno inattese quantità di adenosina (ADO). Questo ha portato a rianalizzare il fenotipo delle cellule tumorali e di quelle normali costituenti la nicchia: è stata così individuata l'espressione di PC-1, l'ectoenzima Ectonucleotidasi Pirofosfatasi Fosfodiesterasi-1 (ENPP-1). In presenza di questo ectoenzima, l'ADPR generato da CD38 può essere convertito in AMP e successivamente in adenosina. Il risultato finale è che nel plasma della nicchia del tumore è stato possibile dosare le quantità di adenosina che vanno da valori molto alti a valori bassi. Anche se in un campione relativamente piccolo di pazienti, è stato osservato che i livelli più elevati di adenosina si accompagnavano a prognosi più critiche per i pazienti di mieloma multiplo. Una ricaduta per il trattamento con Isa potrebbe essere che tale anticorpo è in grado di inibire la formazione di adenosina e quindi influire positivamente sul sistema immunitario del paziente. Al momento, tuttavia, esistono solo studi *ex vivo* per validare questa ipotesi^{17,18}.

La ricerca di base sui meccanismi di azione degli anticorpi terapeutici suggerisce una serie di indicazioni per esplorare aspetti non ancora percorsi nel campo:

1. Apoptosi è il termine che indica la capacità fisiologica di una cellula di regolare il proprio ciclo vitale con morte programmata. Isa è stato selezionato per la capacità di attivare apoptosi

in cellule di mieloma dopo legame con la molecola CD38, una funzione poi risultata superiore a quella esercitata da anticorpi con simile specificità in virtù del riconoscimento di un differente epitopo. Questa proprietà è molto importante, in quanto fornisce un meccanismo di azione peculiare per isatuximab molto sfruttabile clinicamente. Un'ipotesi di lavoro è quella che Isa spiazzi sulla molecola CD38 un ligando naturale (ancora da identificare), il cui legame normalmente protegge la cellula da morte. Questo effetto si verifica con Isa, ma non con anticorpi con simile specificità a causa del riconoscimento di epitopi diversi¹⁹.

2. Un'altra importante caratteristica che differenzia Isa riguarda gli effetti fisici indotti dal legame tra anticorpo e molecola di membrana. Isa induce una modesta internalizzazione del complesso CD38/anticorpo dopo interazione con il bersaglio. Il legame di daratumumab viene invece seguito da una significativa esternalizzazione, con liberazione di microvescicole sulla cui superficie CD38 è arricchito per aggregazione polare della molecola. Tali microvescicole passano nella circolazione generale e possono venire inglobate per fusione somatica in cellule ricche di FcR²⁰.

Altri aspetti sono in fase preliminare di elaborazione e studio:

- il midollo - e in particolare la nicchia in cui cresce il mieloma - è ricco di segnali permissivi o restrittivi della crescita tumorale, e questi segnali procedono e si sviluppano assieme a essa. È verosimile attendersi che i prodotti delle attività enzimatiche di CD38 partecipino a questo quadro di sviluppo?
- il legame degli anticorpi terapeutici anti-CD38 può interferire - in parte o *in toto* - con la funzione enzimatica di CD38?
- i prodotti derivanti dall'attività enzimatica di CD38 possono operare al di fuori della nicchia midollare in cui cresce il tumore?

L'esperienza che si potrà acquisire dall'impiego di Isa in clinica sicuramente contribuirà a fornire risposte ad alcune di queste domande ancora aperte²¹.

Isatuximab per il trattamento dei pazienti con mieloma multiplo recidivato/refrattario

IL RAZIONALE PRECLINICO DELL'ASSOCIAZIONE DI ISATUXIMAB CON POMALIDOMIDE

Pomalidomide (Pom) è un immunomodulante (IMiD) di nuova generazione con un'attività immunostimolante più potente negli studi preclinici rispet-

to alla lenalidomide (Len)²². Gli IMiD (Len e Pom) agiscono mediante effetti anti-MM diretti, che sono mediati dal legame degli IMiD al Cereblon, che promuove l'ubiquitinazione e la successiva degradazione proteasomica delle proteine substrato Aiolos e Ikaros, inducendo inibizione della crescita e apoptosi²³. Inoltre, gli IMiD agiscono con effetti antitumorali indiretti inibendo processi chiave per l'evoluzione della patologia come l'angiogenesi e riducendo l'adesione delle cellule mielomatose²⁴⁻²⁶. Tuttavia, il razionale dell'associazione degli IMiD con altri farmaci immunologici è rappresentato dalla loro attività immunostimolante, in particolare lo stimolo diretto dell'attività delle cellule natural killer (NK) e la costimolazione delle cellule CD4⁺ e CD8⁺^{22,23}.

Isa ha dimostrato di essere attivo quando combinato con Pom e desametasone (Dex)²⁷. Infatti, gli anticorpi monoclonali anti-CD38 presentano meccanismi d'azione pleiotropici rappresentando partner ideali per la combinazione con altri farmaci attivi nel MM. Inoltre, Isa induce direttamente la morte cellulare nelle cellule di MM che esprimono un elevato livello di CD38 tramite percorsi caspasi-dipendenti associati ai lisosomi, oltre a innescare l'ADCC e la citotossicità complemento-mediata²⁸.

Vari studi preclinici hanno mostrato sinergia tra anticorpi anti-CD38 e IMiD, costituendo il razionale preclinico per l'applicazione terapeutica di queste combinazioni²⁸.

Studi fenotipici delle popolazioni di cellule immunitarie hanno dimostrato che il CD38 è espresso ad alti livelli sui diversi citotipi, incluse le cellule immunosoppressive, come le cellule soppressive di derivazione mieloide (MDSC) e le cellule T e B regolatorie (Treg e Breg). Le cellule Treg, in quanto elementi regolatori, sopprimono attivamente la risposta immune e rappresentano una delle principali modalità di induzione della tolleranza. Quindi, il blocco delle Treg può invertire tale processo, promuovendo l'attivazione delle cellule T e la citotossicità delle cellule effettrici, consentendo così al sistema immunitario di attaccare efficacemente le cellule neoplastiche. Il pretrattamento delle cellule Treg con Pom induce l'incremento di espressione del CD38 sulla loro superficie rendendole più sensibili all'azione di Isa e quindi aumentando l'attività inibitoria dell'anti-CD38 su questa popolazione cellulare. L'azione inibitoria di Isa sulle Treg si esplica mediante la loro riduzione, il blocco del loro movimento e il decremento della produzione di citochine immunosoppressive. Tutto ciò, è alla base dell'incremento delle risposte antitumorali mediate dalle cellule T e NK²⁹⁻³¹.

Inoltre, il targeting del CD38 da parte di Isa blocca preferenzialmente le Treg rispetto alle T convenzionali (Tcon) dato l'aumento dei livelli di CD38 sulle Treg che diventano CD38^{high}. Poiché le Treg CD38^{high}

mostrano una capacità immunosoppressiva ancora più elevata²⁹, il targeting del CD38 può abrogare questo sottoinsieme in modo più efficace rispetto ai sottogruppi CD38^{low} o CD38^{neg}, inibendo il microambiente immunosoppressivo del midollo osseo. Inoltre, il blocco delle Treg da parte di Isa ripristina le Tcon e incrementa la capacità citolitica sulle cellule di MM mediata dalle cellule T e NK citotossiche. L'associazione con gli IMiD potenzia ulteriormente questa attività. Infatti, basse dosi di Len o Pom con Isa incrementano la soppressione delle Treg e aumentano la lisi delle cellule mielomatose in vitro mediata dalle cellule immunitarie effettrici.

Esperimenti in vitro dimostrano che la combinazione di Isa e Pom determina un aumento della citotossicità diretta e della lisi delle cellule mielomatose CD38^{pos} mediante citotossicità cellulare anticorpo-dipendente ADCC. Il pretrattamento di cellule mononucleate da sangue periferico con Pom ha indotto incremento da meno del 40% a oltre l'80% dell'ADCC mediata da Isa su cellule MM1S. Inoltre, su linee cellulari di MM derivate da pazienti, la citotossicità indotta da Isa era significativamente aumentata in presenza di Pom²⁸.

Pom aumenta il numero e l'attività delle cellule NK aumentando la lisi delle cellule mielomatose indotta da Isa tramite ADCC, sia cellule di pazienti sensibili sia resistenti agli IMiD (figura 6). È importante sottolineare che Pom incrementa significativamente la morte cellulare diretta indotta da Isa nelle cellule mielomatose CD38^{high} che presentano mutazione della p53 o con del17p indicando che la combinazione con Isa può essere efficace nel MM ad alto rischio citogenetico²⁸.

Sulla base degli effetti sinergici di Pom e Isa sulla lisi delle cellule di MM dimostrati in vitro, sono stati progettati esperimenti in vivo utilizzando un modello di xenotrapianto di topo MOLP-8 MM. La combinazione di Isa e Pom ha determinato una maggiore attività antitumorale rispetto all'attività di solo Isa o della sola Pom, senza influenzare il peso corporeo degli animali³.

Nel complesso, questi risultati dimostrano una maggiore attività di killing cellulare di Isa in combinazione con Len o Pom in vitro e in vivo, con una maggiore attività anti-MM osservata quando Isa viene utilizzato in associazione a Pom/Dex (IsaPd)²⁸. Infatti, diverse evidenze supportano che la combinazione di Isa con Pom sia in grado di superare la resistenza alla Len³²⁻³⁴.

UNMET MEDICAL NEED COPERTO DA ISAPD E DATI DI EFFICACIA

I suddetti dati preclinici hanno supportato lo studio di ISA come agente target dapprima in monoterapia

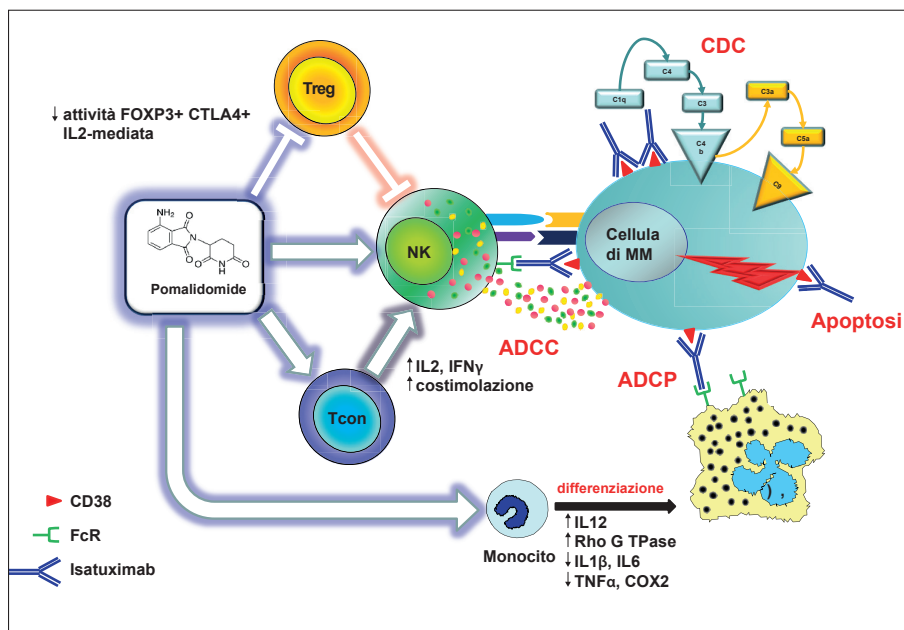


Figura 6. Meccanismi fisiopatologici e razionale per la associazione IsaPd.

e successivamente in combinazione con IMiD in numerosi trial clinici. In particolare, la potenziale efficacia dell'associazione IsaPd ha l'obiettivo di rispondere a una esigenza clinica impellente rappresentata dal setting di pazienti con precedente esposizione o refrattarietà a Len^{35,36}. Al momento, infatti, l'approccio terapeutico di un paziente con buon performance status in ricaduta dopo una prima linea di trattamento prevede l'utilizzo di una tripla farmacologica piuttosto che una doppietta. In particolare, l'associazione di daratumumab con bortezomib e Dex (DaraVd) ha rappresentato un'importante innovazione terapeutica³⁷, mostrando un vantaggio significativo in termini di PFS mediana (mPFS) [HR 95%, CI 0,31 (0,25-0,40)] con 16,7 vs 7,1 mesi rispetto alla doppietta Bortezomib e Dex (Vd). In questo studio l'ORR è stato pari all'85% con il 30% di RC e il 14% di pazienti con malattia minima residua (MRD) negatività. Tuttavia, all'analisi di sottogruppo la mPFS è stata meno soddisfacente nella popolazione precedentemente esposta a Len (9,5 mesi vs 16,7 mesi dell'intera popolazione)³⁷. Pertanto, considerando il crescente utilizzo della Len in prima linea, il trattamento alla ricaduta da tale regime necessita di essere ottimizzato. Recentemente numerosi studi clinici, tra cui ENDEAVOR³⁸, CASTOR³⁹ e OPTIMISM⁴⁰, hanno valutato diverse strategie terapeutiche nei pazienti refrattari alla Len, tra le quali daratumumab in combinazione con carfilzomib e Dex (DaraKd)⁴¹.

ICARIA-MM è il primo studio randomizzato di fase 3 che aggiunge un anticorpo CD38 allo schema base Pom/Dex (Pd)^{27,42}. Lo studio ha arruolato pazienti equamente distribuiti tra i due gruppi per caratteristiche demografiche e di patologia al basale, con insufficienza renale, pretrattati (circa un terzo di pazienti

aveva ricevuto un numero mediano di tre linee di terapia (range 2-11) e nella maggior parte dei casi refrattari a Len al momento dell'arruolamento nello studio. La PFS mediana nello studio ICARIA-MM è stata di 11,5 mesi (95% CI: 8,9-13,9) per il braccio IsaPd rispetto a 6,5 mesi (4,5-8,3) nel braccio Pd (HR: 0,596; 95% CI: 0,44-0,81; $p=0,001$). Il beneficio dell'aggiunta dell'anti-CD38 Isa è stato significativo in tutti i sottogruppi di pazienti, indipendentemente dalla refrattarietà alla Len, dal rischio citogenetico e dai valori di clearance di creatinina al basale (eGFR)⁴³. Il tasso di risposta complessivo è stato del 60,4% con il 31,8% di VGPR e un tempo mediano alla prima risposta di 35 giorni per IsaPd vs 58 giorni per Pd, nonostante il tasso di OR reale nel braccio IsaPd sia probabilmente sottostimato a causa dell'interferenza di Isa con la misurazione della proteina M e una negatività MRD a 10^{-5} del 5,2% per IsaPd vs 0 per Pd^{27,43}. Il profilo di sicurezza di IsaPd nei pazienti con MM recidivato/refrattario (RRMM) è stato caratterizzato dalla tossicità di Pom e Dex, e reazioni infusionali iniziali di basso grado di severità, in linea con l'uso di un anticorpo monoclonale e senza reazioni infusionali ritardate. La qualità della vita è stata mantenuta durante il trattamento per entrambi i bracci di trattamento²⁷.

PAZIENTI TARGET PER ISAPD E PROSPETTIVE FUTURE

La combinazione di IsaPd si è dimostrata sicura ed efficace anche nella popolazione anziana e nei pazienti fragili.

A causa del rilevante ruolo prognostico, l'età è stato uno dei fattori di stratificazione nello studio ICARIA-MM. Un'analisi di sottogruppo prepianifica-

ta ha comparato il profilo di sicurezza ed efficacia in tre gruppi di età (≥ 75 anni, 65-74 anni e < 65 anni), mostrando un beneficio in termini di mPFS e ORR sovrapponibile nei tutti i gruppi di pazienti⁴⁴. Pertanto, in contrasto con l'evidenza generale di un impatto prognostico negativo dell'età sull'outcome dei pazienti affetti da MM, lo studio ha dimostrato che l'aggiunta di Isa a Pom/Dex si è tradotta in un beneficio in termini di PFS, OS, ORR, VGPR e migliori risposte nei pazienti anziani, in maniera analoga al beneficio registrato nella popolazione generale. Inoltre, Isa è stato ben tollerato nei pazienti più anziani (≥ 75 anni), la cui durata di trattamento è stata più lunga di quella dei pazienti più giovani, senza aumento di eventi avversi fatali nel braccio IsaPd vs il braccio Pd. È stata registrata una percentuale maggiore di eventi avversi di grado ≥ 3 con IsaPd in pazienti di età ≥ 75 anni (93,8%) rispetto a pazienti di età inferiore a 65 anni (85,2%), con un andamento simile a quello osservato nel braccio Pd (75,0 e 64,7%, rispettivamente)⁴⁴.

Un'analisi *post hoc*, in seguito, ha valutato l'impatto della fragilità del paziente sull'outcome e safety della combinazione IsaPd⁴⁵. Utilizzando uno score di fragilità semplice basato su età, indice di Comorbidità di Charlson modificato e PS ECOG, il 28% della popolazione dello studio ICARIA-MM veniva classificato come fragile (score ≥ 2), con una quota maggiore di pazienti fragili nel braccio IsaPd (31,2%) rispetto al braccio Pd (24,8%) seppur non statisticamente significativa. Il beneficio in termini di mPFS con IsaPd rispetto a Pd nei pazienti fragili (incremento di 4,5 mesi) è stato consistente con l'incremento osservato nei pazienti con età ≥ 75 anni (incremento di 6,9 mesi) e in tutta la popolazione generale (incremento di 5 mesi). Le tossicità osservate nei pazienti fragili trattati con IsaPd erano gestibili e simili a quelle osservate nei pazienti non fragili, con tassi di interruzione del trattamento, durata del trattamento e tassi di incidenza di eventi avversi ematologici comparabili, mostrando la fattibilità di questo regime a tre farmaci anche nella popolazione fragile⁴⁵.

Se consideriamo la funzionalità renale che rappresenta un ulteriore elemento cruciale nell'approccio terapeutico della RRMM, lo studio ICARIA-MM ha dimostrato che l'aggiunta di Isa a Pd è correlata a un vantaggio in termini di mPFS nei pazienti con insufficienza renale (IR; eGFR < 60 mL/min/1,73 m²) pari a 9,5 mesi (n=55) rispetto a 3,7 mesi nei pazienti con IR del braccio Pd (n=49) (HR: 0,50; 95% CI: 0,30-0,85); nei pazienti senza IR la mPFS era di 12,7 mesi con IsaPd e 7,9 mesi con Pd (HR: 0,58; 95% CI: 0,38-0,88). Il trattamento di combinazione IsaPd, inoltre, è associato al 71,9% di risposta renale completa (eGFR ≥ 60 mL/min/1,73 m²) rispetto al 38,1% nel braccio Pd con un tasso di risposta renale completa sostenuta (≥ 60 giorni) del 31,3% rispetto al 19% del braccio Pd⁴⁶.

Il beneficio della tripletta si è mantenuto, inoltre, anche nelle popolazioni a maggiore rischio. Infatti l'analisi di sottogruppo ha mostrato un vantaggio in termini di mPFS anche nei pazienti Len-refractory: 11,4 vs 5,6 mesi nel braccio IsaPd (n=144) e Pd (n=140), rispettivamente (HR: 0,60; 95% CI: 0,43-0,82)^{27,43}. Inoltre, la PFS mediana è risultata essere migliore nel gruppo IsaPd (n=93) versus Pd (n=88) nel sottogruppo di soggetti refrattari a Len (11,6 vs 5,7 mesi; HR: 0,50; 95% CI: 0,34-0,76). Un beneficio sovrapponibile con la tripletta è stato riportato anche nei pazienti refrattari agli inibitori del proteasoma (PI) (mPFS 11,4 vs 5,6 mesi; HR: 0,58; 95% CI: 0,41-0,82), così come nei pazienti doppio-refrattari (Len+PI) (11,2 vs 4,8 mesi; HR: 0,58; 95% CI: 0,40-0,84) a sottolineare l'importanza della terapia di combinazione anche nelle popolazioni a prognosi più sfavorevole²⁹. Complessivamente, confrontando gli studi di fase III con focus sulla malattia refrattaria a Len in prima linea, i dati dello studio ICARIA-MM sono piuttosto impressionanti nel migliorare l'outcome del paziente nel contesto del RRMM (tabella 1)⁴⁷.

Considerando un'altra popolazione di pazienti con ridotta sopravvivenza, quella con alto rischio citogenetico, il vantaggio di IsaPd viene confermato anche in questo sottogruppo di pazienti. Nello studio ICARIA-MM pazienti con anomalie cromosomiche quali del17p, traslocazione t(4;14) o traslocazione t(14;16), che rappresentavano il 15,6% nel braccio IsaPd e il 23,5% nel braccio Pd, avevano una mPFS di 7,5 mesi e di 3,7 mesi (HR: 0,66; 95% CI: 0,33-1,28), rispettivamente, che, seppur più bassa rispetto a quella della popolazione a rischio standard, mostrava il vantaggio della combinazione a tre farmaci rispetto al controllo. La magnitudo di tale vantaggio era maggiore nei pazienti con t(4;14) (mPFS 7,5 vs 2,8 mesi in IsaPd vs Pd; HR: 0,49; 95% CI: 0,19-1,31) e meno profonda nei pazienti ad alto rischio con del17p (9,1 vs 7,4 mesi; HR: 0,76; 95% CI: 0,30-1,92). Comparato con Pd, IsaPd determinava un incremento della ORR da 16,7% a 50% nei pazienti con alto rischio citogenetico, così come un maggior tasso di VGPR o di migliori risposte (da 2,8% a 29,2%)^{27,43}.

Pertanto, la combinazione IsaPd rappresenta un trattamento efficace e sicuro sia nei pazienti anziani, fragili e con IR, sia nelle popolazioni a prognosi più sfavorevole quali i pazienti con alto rischio citogenetico e i pazienti refrattari a Len e bortezomib e può rappresentare una delle opzioni terapeutiche più rilevanti nel RRMM⁴⁸.

PROSPETTIVE TERAPEUTICHE PER I PAZIENTI AD ALTO RISCHIO CITOGNETICO

Lo studio IKEMA, randomizzato, in aperto, multicentrico di fase III ha studiato con carfilzomib e desametasone in pazienti con mieloma multiplo recidivato

Tabella 1. Caratteristiche delle popolazioni arruolate nei diversi trial clinici.

	ENDEAVOR ¹⁸ Carf-Dex (n=464)	CASTOR ¹⁹ Dara-Bort-Dex (n=251)	OPTIMISMM ²⁰ Bort-Dex (n=282)	ICARIA ⁴⁷ Isa-Pom-Dex (n=154)
Fase di studio	3	3	3	3
N. mediano di precedenti linee di terapia	2 (1-2)	2 (1-9)	2(1-3)	3 (2-11)
Refrattarietà a:				
Len (%)	24	24	71	93,5
lortezomib (%)	3	-	9	76,6**
Len + bortezomib (%)	NR	-	5	73,4***
ultima linea precedente di terapia (%)	NR	30	70	97,4
Len	NR	18	23	60,4
PFS mediana, mesi in pazienti Len-refrattari	8,6	9,3*	9,5	11,4

*Len-refrattario; **PI-refrattario; *** IMiD+PI-refrattario.

refrattario dopo un numero da una a tre linee terapeutiche precedenti.

La presenza di caratteristiche citogeniche ad alto rischio definite come presenza di t(4;14), del(17p) e t(14;16) è stata ben documentata come fattore prognostico negativo nel mieloma multiplo, essendo associata a una prognosi sfavorevole rispetto al paziente a rischio standard. Anche le anomalie gain(1q21) e amp(1q21), due delle anomalie cromosomiche più frequentemente riscontrate, ricoprono un ruolo prognostico sfavorevole. Oltre ad altri risultati promettenti⁴⁹, un'analisi di sottogruppo di pazienti dello studio IKEMA ha analizzato l'efficacia e la sicurezza nel subset con citogenetica ad alto rischio.

In questo ambito il gain(1q21) è stato definito come la presenza di almeno tre copie e amp(1q21) come quattro o più copie. Tra i pazienti randomizzati, con il 23,5% di Isa-Kd e il 25,2% di Kd presentavano almeno un'anomalia cromosomica ad alto rischio. Il gain(1q21) è stato rilevato in circa il 42% di entrambi i bracci. Isa-Kd ha condotto a un miglioramento nella PFS per i pazienti con almeno un'anomalia cromosomica ad alto rischio e per i pazienti a rischio standard (HR 0,724 e 0,440, rispettivamente). Questo effetto del trattamento è stato meno pronunciato nei pazienti con del(17p). È stato osservato anche un beneficio in termini di PFS a favore di Isa-Kd per i pazienti con gain(1q21) e amp(1q21) (HR 0,569 e 0,462). Inoltre, il beneficio è stato osservato nei pazienti con amp(1q21) (HR 0,53; IC 95% 0,150-1,878). Isa-Kd ha consentito di ottenere una migliore risposta con una MRD più pronunciata, VGPR e un tasso di risposta completa nei pazienti con gain(1q21), mentre questi tassi erano

simili in entrambi i bracci per i pazienti con citogenetica ad alto rischio. Isa-Kd ha consentito di ottenere profili di sicurezza gestibili in tutti i sottogruppi. Gli effetti collaterali di grado 3 o superiore (TEAE) erano più comuni con i pazienti Isa-Kd, con citogenetica ad alto rischio e nei soggetti con gain(1q21).

Tuttavia, l'incidenza di TEAE gravi e TEAE con esito fatale durante lo studio era simile in entrambi i bracci, indicando che l'aggiunta di Isa al Kd non incrementa la tossicità correlata al trattamento.

Un minor numero di pazienti trattati con Isa-Kd rispetto a Kd ha manifestato TEAE, determinando l'interruzione definitiva del trattamento tra tutti i gruppi. L'aggiunta di Isa-Kd ha migliorato la prognosi nei pazienti con citogenetica ad alto rischio sia in termini di PFS (mediana non raggiunta per Isa-Kd versus 19 mesi per Kd) nei soggetti con gain(1q21) o amp(1q21) con un profilo di sicurezza gestibile, che era coerente con il beneficio osservato nella popolazione globale. Pertanto, Isa-Kd può essere un trattamento per sottogruppi di pazienti che rappresentano sfide terapeutiche nel contesto di una malattia recidivo-refrattaria ad alto rischio citogenetico⁴⁹.

Conflitto di interessi: R. Ria ha collaborato come Speaker's Bureau con: BMS, CSL Behring, Celgene, Italfarmaco, Janssen Cilag; come Consultant con: BMS, CSL Behring, Celgene, GSK, Italfarmaco, Janssen Cilag, Octapharma. A.G. Solimando dichiara l'assenza di conflitto di interessi.

Authorship: Fabio Malavasi e Angelo Corso Faini hanno redatto la prima parte del lavoro relativa alla ricerca di base nella preparazione di isatuximab; Roberto Ria e Antonio G. Solimando hanno curato quella relativa a isatuximab per il trattamento dei pazienti con mieloma multiplo recidivo/refrattario.

Bibliografia

- Goding JW, Terkeltaub R, Maurice M, et al. Ecto-phosphodiesterase/pyrophosphatase of lymphocytes and non-lymphoid cells: structure and function of the PC-1 family. *Immunol Rev* 1998; 161: 11-26.
- Malavasi F, Deaglio S, Funaro A, et al. Evolution and function of the ADP ribosyl cyclase/CD38 gene family in physiology and pathology. *Physiol Rev* 2008; 88: 841-86.
- Martin TG, Corzo K, Chiron M, et al. Therapeutic opportunities with pharmacological inhibition of CD38 with isatuximab. *Cells* 2019; 8: 1522.
- Joher N, Matignon M, Grimbort P. HLA desensitization in solid organ transplantation: anti-CD38 to across the immunological barriers. *Front Immunol* 2021; 12: 688301.
- Deckert J, Wetzel M-C, Bartle LM, et al. SAR650984, a novel humanized CD38-targeting antibody, demonstrates potent antitumor activity in models of multiple myeloma and other CD38⁺ hematologic malignancies. *Clin Cancer Res* 2014; 20: 4574-83.
- Chung S, Lin YL, Reed C, et al. Characterization of in vitro antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity activity of therapeutic antibodies. Impact of effector cells. *J Immunol Methods* 2014; 407: 63-75.
- van de Donk NWCJ, Richardson PG, Malavasi F. CD38 antibodies in multiple myeloma: back to the future. *Blood* 2018; 131: 13-29.
- Moreno L, Perez C, Zabaleta A, et al. The mechanism of action of the anti-CD38 monoclonal antibody isatuximab in multiple myeloma. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res* 2019; 25: 3176-87.
- Malavasi F, Faini AC. Mechanism of action of a new anti-CD38 antibody: enhancing myeloma immunotherapy. *Clin Cancer Res* 2019; 25: 2946-8.
- Qi T, Cao Y. In translation: FcRn across the therapeutic spectrum. *Int J Mol Sci* 2021; 22: 3048.
- Fau J, El-Cheikh R, Brillac C, et al. Drug-disease interaction and time-dependent population pharmacokinetics of isatuximab in relapsed/refractory multiple myeloma patients. *CPT Pharmacomet Syst Pharmacol* 2020; 9: 649-58.
- Zhu C, Song Z, Wang A, et al. Isatuximab acts through Fc-dependent, independent, and direct pathways to kill multiple myeloma cells. *Front Immunol* 2020; 11: 1771.
- Lee HT, Park UB, Jeong TJ, et al. High-resolution structure of the vWF A1 domain in complex with caplacizumab, the first nanobody-based medicine for treating acquired TTP. *Biochem Biophys Res Commun* 2021; 567: 49-55.
- Lee HC, Deng QW, Zhao YJ. The calcium signaling enzyme CD38 - a paradigm for membrane topology defining distinct protein functions. *Cell Calcium* 2021; 101: 102514.
- Lammerts van Bueren J, Jakobs D, Kaldenhoven N, et al. Direct in vitro comparison of daratumumab with surrogate analogs of CD38 antibodies MOR03087, SAR650984 and Ab79. *Blood* 2014; 124: 3474.
- Horenstein AL, Faini AC, Malavasi F. CD38 in the age of COVID-19: a medical perspective. *Physiol Rev* 2021; 101: 1457-86.
- Horenstein AL, Quarona V, Toscani D, et al. Adenosine generated in the bone marrow niche through a CD38-mediated pathway correlates with progression of human myeloma. *Mol Med Camb Mass* 2016; 22: 694-704.
- Morandi F, Marimpietri D, Horenstein AL, et al. Microvesicles released from multiple myeloma cells are equipped with ectoenzymes belonging to canonical and non-canonical adenosinergic pathways and produce adenosine from ATP and NAD. *Oncoimmunology* 2018; 7: e1458809.
- Malavasi F, Deaglio S, Damle R, et al. CD38 and chronic lymphocytic leukemia: a decade later. *Blood* 2011; 118: 3470-8.
- Malavasi F, Faini AC, Morandi F, et al. Molecular dynamics of targeting CD38 in multiple myeloma. *Br J Haematol* 2021; 193: 581-91.
- Richardson PG, Beksaç M, Špička I, Mikhael J. Isatuximab for the treatment of relapsed/refractory multiple myeloma. *Expert Opin Biol Ther* 2020; 20: 1395-404.
- Quach H, Ritchie D, Stewart AK, et al. Mechanism of action of immunomodulatory drugs (IMiDs) in multiple myeloma. *Leukemia* 2010; 24: 22-32.
- Lopez-Girona A, Mendy D, Ito T, et al. Cereblon is a direct protein target for immunomodulatory and antiproliferative activities of lenalidomide and pomalidomide. *Leukemia* 2012; 26: 2326-35.
- De Luisi A, Ferrucci A, Coluccia AML, et al. Lenalidomide restrains motility and overangiogenic potential of bone marrow endothelial cells in patients with active multiple myeloma. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res* 2011; 17: 1935-46.
- Solimando AG, Da Via MC, Leone P, et al. Halting the vicious cycle within the multiple myeloma ecosystem: blocking JAM-A on bone marrow endothelial cells restores angiogenic homeostasis and suppresses tumor progression. *Haematologica* 2021; 106: 1943-56.
- Solimando AG, Da Via MC, Cicco S, et al. High-risk multiple myeloma: integrated clinical and omics approach dissects the neoplastic clone and the tumor microenvironment. *J Clin Med* 2019; 8: E997.
- Attal M, Richardson PG, Rajkumar SV, et al. Isatuximab plus pomalidomide and low-dose dexamethasone versus pomalidomide and low-dose dexamethasone in patients with relapsed and refractory multiple myeloma (ICARIA-MM): a randomised, multicentre, open-label, phase 3 study. *Lancet* 2019; 394: 2096-107.
- Jiang H, Acharya C, An G, et al. SAR650984 directly induces multiple myeloma cell death via lysosomal-associated and apoptotic pathways, which is further enhanced by pomalidomide. *Leukemia* 2016; 30: 399-408.
- Feng X, Zhang L, Acharya C, et al. Targeting CD38 suppresses induction and function of T regulatory cells to mitigate immunosuppression in multiple myeloma. *Clin Cancer Res* 2017; 23: 4290-300.
- Franssen LE, Stege CAM, Zweegman S, van de Donk NWCJ, Nijhof IS. Resistance mechanisms towards CD38-Directed antibody therapy in multiple myeloma. *J Clin Med* 2020; 9: 1195.
- Saltarella I, Desantis V, Melaccio A, et al. Mechanisms of resistance to anti-CD38 daratumumab in multiple myeloma. *Cells* 2020; 9: E167.
- Ocio EM, Fernández-Lázaro D, San-Segundo L, et al. In vivo murine model of acquired resistance in myeloma reveals differential mechanisms for lenalidomide and pomalidomide in combination with dexamethasone. *Leukemia* 2015; 29: 705-14.
- Uccello G, Petrucci A, Mazzone C, et al. Pomalidomide in multiple myeloma. *Expert Opin Pharmacother* 2017; 18: 133-7.
- Dimopoulos MA, Dytfield D, Grosicki S, et al. Elotuzumab plus pomalidomide and dexamethasone for multiple myeloma. *N Engl J Med* 2018; 379: 1811-22.

35. Dimopoulos MA, Moreau P, Palumbo A, et al. Carfilzomib and dexamethasone versus bortezomib and dexamethasone for patients with relapsed or refractory multiple myeloma (ENDEAVOR): a randomised, phase 3, open-label, multicentre study. *Lancet Oncol* 2016; 17: 27-38.
36. Dimopoulos MA, Goldschmidt H, Niesvizky R, et al. Carfilzomib or bortezomib in relapsed or refractory multiple myeloma (ENDEAVOR): an interim overall survival analysis of an open-label, randomised, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2017; 18: 1327-37.
37. Spencer A, Lentzsch S, Weisel K, et al. Daratumumab plus bortezomib and dexamethasone versus bortezomib and dexamethasone in relapsed or refractory multiple myeloma: updated analysis of CASTOR. *Haematologica* 2018; 103: 2079-87.
38. Moreau P, Joshua D, Chng W-J, et al. Impact of prior treatment on patients with relapsed multiple myeloma treated with carfilzomib and dexamethasone vs bortezomib and dexamethasone in the phase 3 ENDEAVOR study. *Leukemia* 2017; 31: 115-22.
39. Mateos M-V, Sonneveld P, Hungria V, et al. Daratumumab, bortezomib, and dexamethasone versus bortezomib and dexamethasone in patients with previously treated multiple myeloma: three-year follow-up of CASTOR. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 2020; 20: 509-18.
40. Dimopoulos M, Weisel K, Moreau P, et al. Pomalidomide, bortezomib, and dexamethasone for multiple myeloma previously treated with lenalidomide (OPTIMISM): outcomes by prior treatment at first relapse. *Leukemia* 2021; 35: 1722-31.
41. Dimopoulos M, Quach H, Mateos M-V, et al. Carfilzomib, dexamethasone, and daratumumab versus carfilzomib and dexamethasone for patients with relapsed or refractory multiple myeloma (CANDOR): results from a randomised, multicentre, open-label, phase 3 study. *Lancet Lond Engl* 2020; 396: 186-97.
42. Richardson PG, Attal M, Campana F, et al. Isatuximab plus pomalidomide/dexamethasone versus pomalidomide/dexamethasone in relapsed/refractory multiple myeloma: ICARIA Phase III study design. *Future Oncol Lond Engl* 2018; 14: 1035-47.
43. Richardson PG, Harrison SJ, Brinchen S, et al. Isatuximab for relapsed/refractory multiple myeloma: review of key subgroup analyses from the Phase III ICARIA-MM study. *Future Oncol Lond Engl* 2021; 17: 4797-812.
44. Schjesvold FH, Richardson PG, Facon T, et al. Isatuximab plus pomalidomide and dexamethasone in elderly patients with relapsed/refractory multiple myeloma: ICARIA-MM subgroup analysis. *Haematologica* 2021; 106: 1182-7.
45. Schjesvold F, Brinchen S, Richardson PG, et al. Isatuximab plus pomalidomide and dexamethasone in frail patients with relapsed/refractory multiple myeloma: ICARIA-MM subgroup analysis. *Am J Hematol* 2021; 96: E423-E427.
46. Dimopoulos MA, Leleu X, Moreau P, et al. Isatuximab plus pomalidomide and dexamethasone in relapsed/refractory multiple myeloma patients with renal impairment: ICARIA-MM subgroup analysis. *Leukemia* 2021; 35: 562-72.
47. Brinchen S, Pour L, Vorobyev V, et al. Isatuximab plus pomalidomide and dexamethasone in patients with relapsed/refractory multiple myeloma according to prior lines of treatment and refractory status: ICARIA-MM subgroup analysis. *Leuk Res* 2021; 104: 106576.
48. Dimopoulos MA, Moreau P, Terpos E, et al. Multiple myeloma: EHA-ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol* 2021; 32: 309-22.
49. Moreau P, Dimopoulos MA, Mikhael J, et al.; IKEMA study group. Isatuximab, carfilzomib, and dexamethasone in relapsed multiple myeloma (IKEMA): a multicentre, open-label, randomised phase 3 trial. *Lancet* 2021; 397: 2361-71.